Feb., 1983

以化学纯饲料饲养北京的桃蚜

柯礼道 钦俊德

(中国科学院动物研究所)

摘要 应用修改后的 Dadd 和 Mitter (1966)全纯饲料配方配制成人工饲料饲养定居在北京温室烟草上的桃蚜 Myzus persicae 可完成生活史并连续饲养 3 代。本文描述饲料配制、饲养和取食显测定的方法。这 3 代初羽化无翅孤雌胎生雌蚜的平均体重分别为: 440±90.7μg, 264±104.9μg 和 312±127.9μg。用 放射性同位素稀释法测定取食量的结果得悉若虫期的总取食量每蚜约为 1.74μg,相当于 1.16μl。

用全纯饲料饲养桃蚜(Myzus persicae)的研究已经历了近五分之一世纪(Mittler and Dadd, 1962),发表的文章约计 50 篇左右。但直到在半纯饲料上连续饲养 45 代,平均重量 600—800 μg 之时,在全纯的饲料上还只能连续饲养 3 代,体重亦逐代下降(Mittler等,1976)。而且,不同来源的蚜虫反应不同,这涉及桃蚜分化成种系的问题。开展全纯桃蚜人工饲料的研究,不仅能了解此虫的营养需要,并且,在有了某种成功的饲料之后,就能为其他研究提供标准昆虫。

另外,前人对桃蚜取食量、排泄量的了解只限一天或几天,所得结果差异很大(Mittler, 1967; Harrewijn 等, 1971)。而取食量研究有助于估计蚜虫的为害损失。

本文报道用全纯人工饲料饲养北京桃蚜的一些结果。

材料与方法

一、蚜虫 定居在北京温室烟草上的桃蚜是本研究常用的虫源。 如无足量母蚜,也在室外烟草上采虫。春季还采桃树上的干母、干雌。 试验用虫是它们在人工饲料上产下的同年龄若虫。饲养条件为 $25\pm1\%$,相对湿度 85-95%,光周期 16:8(光: 暗)。

二、饲料 研究之初,反复尝试过几种饲料 (Dadd 等, 1966; 1967; Mittler, 1970, 1974; Harrewijn 1971, 1973),都未获成功。最后在 Dadd 等(1966)基本配方基础上,对下述成分加以修改,得到较好的饲养效果: 1。甲硫氨酸增加到 80 毫克/100 毫升 饲料(Mittler, 1970); 2. 用 FeCl₃ 668 毫微克, ZnSO₄ 227 毫微克, MnCl₂ 259 毫微克和 CuCl₃ 138 毫微克代替原配方中 4 种微量元素的用量,并用抗坏血酸代替 EDTA 来螯合; 3. 除去原配方中的核黄素 (Markkula 等, 1967; Ehrhardt, 1968; Griffiths 等, 1975) (修改后的饲料简称 619)。 配制 50 毫升饲料的程序如下: 1. 将 40 毫升胆固醇饱和的重蒸水分次加入按表 1 称取半量的氨基酸中,不断搅拌,以求充分溶解。2。加 10 毫升重蒸水于扩大了 10 倍量的微量元素混合物中,溶解后抽取 0。5 毫升,加到按表 1 半量的抗坏血酸中。3. 加 1 滴 1NNaOH 和 1 毫升重蒸水于生物素和叶酸混合物中(向近敏等, 1965)。 4. 加 4 毫升重蒸水于 B 族维生素混合物中。然后按下列步骤混合: 氨基酸混合液 + 蔗糖 +

本文于 1982 年 4 月收到。

KH₂PO₄ + MgCl₂ + 0.5 亳升生物素、叶酸混合物 + B 族维生素 2 亳升 + 抗坏血酸微量元素整合物 0.5 亳升。用 30% KOH 调 pH 到 7.0。接着用重蒸水稀释到 50 亳升。 最后用消好毒的、微孔滤膜(孔径为 0.22 μ) (上加有一片消毒滤纸的)细菌过滤器过滤灭菌。在无菌室内分装、封口。贮存于低温冰箱 (-20℃ 以下)中备用。

在探索用人工饲料饲养桃蚜期间,曾用上述饲料与 Harrewijn (1979, 个人通讯)拟定的饲料 (148) 作了饲养效果比较。现将二种配方列于表 1。

三、饲养器 图版 I:1 是个 20 平方厘米,高 10 厘米的透明塑料盒。两边挖直径 2 厘米的通气洞 6 个。盒内放大小正好匹配的灰色塑料台板一块,其下方蓄水保湿。台板上有等距离、直径为 2 厘米的眼孔 25 个,每眼供一个饲养笼座落。饲养笼是个灰色但光洁的塑料环,亦用内径 4.5 厘米,高 2.5 厘米塑料环(或玻璃环)。上铺拉紧了的 parafilm 薄膜一张(拉膜时用力均匀,尽量展开,以不裂为度),然后置于无菌室内,在紫外灯下灭菌 1—1.5 小时。往膜上滴上饲料后,用第二块消毒面朝下的膜封合。从笼的另一面接虫后,套上100 目铜纱做成的底盖,放在饲养器中。整个饲养器顶部盖一块桔黄色塑料板,以利无翅蚜安定(Kunkel, 1977)。

四、饲料的同位素标记和取食量测定 用 14 C-甘氨酸,将饲料标记成 $0.01~\mu ci/\mu l$ 饲料(理论上,每分钟衰变原子数为 $22,000~dpm/\mu l$),经 内标准源法 (上海原子核所生产的 14 C-正十六烷,比强为 $2099\pm62~dpm/\mu l$ 作标准样品)测定标记饲料的实际放射强度(见 '结果')。取食量(μl) = 样品计数 $(dpm)/1\mu l$ 饲料计数 (dpm)。

用重蒸水与重蒸醋酸乙酯反复匀浆取食后样品,用二氧六环 1,000 毫升加 100 克萘、

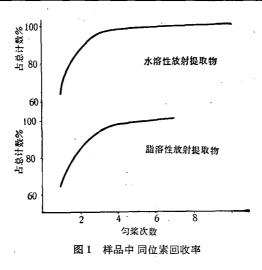
组分	据 Dadd 等 (1966) 修改	据 Harrewijn (1979)	组分	据 Dadd 等 (1966) 修改	据 Harrewijn (1979)
丙氨酸-LD	200(mg)	100(mg)	抗坏血酸	100(mg)	50 (mg)
精氨酸	270	200	KH₂PO₄	500	
天冬酰胺	550	500	MgCl ₂ · 6H ₂ O	200	MgSO ₄ · 7H ₂ O123
天门冬氨酸	140	200	蔗糖 15 (克)		15(克)·
半胱氨酸	40	100	微量元素		
谷氨酸	140	200	CuCl ₂ · 2H ₂ O	138 (μg)	0.2 (mg)
谷氨酰胺	150	200	MnCl ₂ · 4H ₂ O	259	0.4
甘氨酸	- 80	50	ZnSO₄ · 7H₂O	277	0.8
组氨酸	80	80	FeCl ₃ · 3H ₂ O	668	11.0
异亮氨酸	80	100	硫胺素	2.5 (mg)	2.5 (mg)
亮氨酸	80	100	烟酸	10.0	10.0
赖氨酸	120	. 100	吡哆酸	2.5	2.5
甲硫氨酸	80	100	泛酸钙	5.0	5.0
苯丙氨酸	40	40	肌醇	50.0	50 .0
脯氨酸	80	40	氯化胆碱	50 .0	50.0
丝氨酸	80	50	叶 酸	0.5	0.5
苏氨酸	140	150	生物素	0.1	. 0.1
色氨酸	80	50	柠檬酸	_	10.0(mg)
酪氨酸	40	40	调节 pH 方法	кон30%	$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$
缬氨酸	80	100		调到 7.0	调到 6.8

表 1 配制 100 毫升桃蚜人工饲料的二个配方

10克 ppo,0.25 克 popop 为闪烁液。样品提取后过夜,次日在 LKB-wallac 8100 型液体闪烁计数器计数。在预备试验和以后多次对照试验中已经证明: (1)存在于各龄蚜虫体内的化学成分,包括色素,不能化学发光。(2)与闪烁液体积比为 1/50 的高氯酸和 2/50 过氧化氢处理同位素标记饲料后,淬灭率高达 93% 以上。因此,取食同位素以后的蚜虫不用高氯酸、过氧化氢法消化。(3) 匀浆抽提后移入二氧六环闪液中的样品,再经 10% SDS处理(使闪液最终浓度有 1% SDS) 2 小时,无增加记数的效果(见表 2)。(4)取食同位素标记饲料一天后的蚜虫,经 50μl 重蒸水匀浆 7 次后,再用 50μl 醋酸乙酯匀浆提取 3 次,回收率达 99.36%(图 1,表 3)。把标记饲料滴在饲养笼 parafilm 膜的中间部位,底盖上放微孔滤膜一张吸收蚜虫蜜露,次日直接投入闪烁瓶内计数。

桃蚜化学 发光检验 (cpm) (每次 8 头,重复 3 次,平均)		高氯酸、过氧化氢 对样品淬灭的影响 (cpm)			1% SDS 对样品计数的影响				
本底	加样后	2μl 标	加 100µl 高氯酸	淬灭	样品 2μl 计数(重复	加 10%SDS	5 头若虫一天	加 10%SDS	
		记样品	200μl 过氧化氢后	%	6次)	50µl 后计数	平均取食品	50µl 后计数	
22	31	51,432	3,446	93.3	50,356	50,771	5,423	5,428	

表 2 桃蚜化学发光可能性与化学淬灭



由于取食 148 饲料长大的成虫产了 67.4% 的死幼虫, 所以下述结果实际上是从 619 饲料中得到的。

结

- 一、在人工饲料上生活桃蚜的逐日生长量测定 出生当天幼虫平均 重量 33.8 ± 8.0 μ g,羽化前一天(出生后第 7 天)体重 458.4 ± 27.5 μ g,增加 13.6 倍。成虫羽化后体重继续增加,第 10 天达 599 ± 120 μ g。出生后第 6 天绝对重量增加最多,羽化前一天体重增加最少。图 2 是它们的生长曲线。图版 I:2,3 表明了桃蚜在 619 饲料上安定取食的情况。
 - 二、若虫期取食量测定 桃蚜完成一代的时间只需 7 天。个体发育的差异造成了它

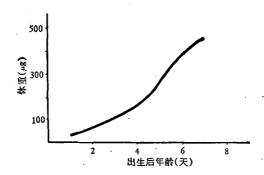


图 2 以人工饲料为食的桃蚜若虫期生长曲线

衰3 在人工饲料上, 桃蚜若虫期逐日取食量和排泄量的测定

(8 头虫为一处理,每处理重复 10 次; 饲料放射性强度 26051 dpm/µl, 液闪计数器计数效率 80.7%)

出生后天数	2	3 .	4	5	6	7	整个若虫期
体内计数 (dpm)/ (头	5206±371	3354±845	3778±793	3423±1619	4399±1361	1208±538	21368.
蜜露计数 (dpm)/(头) 1362±519	1191±626	2178±993	1121±885	2607±1221	514±599	8973
取食总数 (dpm)/(头	6568	4545	5956	4544	7006	1722	30341
近似吸收%	79.3	· 73.8	63.4	75.3	62.8	70.2	70.4
取 (川)/食 (头)	0.25	0.17	0.23	0.17	0.27	0.07	1.16
取 (µl)/ (头) (共) (µg)/** (头)	253	172	233	172	273	71	1174

- * 近似吸收率=体内计数 (dpm)/(体内计数+蜜露计数) (dpm)×100%
- ** 称 10μ l 人工饲料 12 次,平均重量为 $1012~\mu g/\mu$ l,据配方计算,应 $1187~\mu g/\mu$ l,由于制备过程中过滤等关系,可能造成含量不足。这里按实际称量换算。

们世代重叠的现象。在大量试验昆虫中迅速鉴定'同一龄期'比较困难。所以取食量测定也用出生后天数为标准。让无翅胎生雌蚜在人工饲料上产幼蚜1天,得800头左右同天出生的幼蚜,从第2天起逐日移到有同位素标记的饲料上取食24小时,每笼8头,重复10次,结果见表3。由于出生当天的取食量不好测定,所以只能从出生后第2天开始。由表3可见:1.从第2天直到羽化的总取食量为1.16μl。如将出生当天取食量估计在内,整个若虫期约取食1.3μl,每天每头若虫约取食0.2μl。2. 平均近似吸收率为70.4%,各天取食量及近似吸收率都无随年龄变化的规律。3.第6天的平均取食量最大,近似吸收率最低,这正好是绝对体重增加最大的一天。4.出生第2天,幼虫发育比较整齐,测定数据的离散度最小,经这一天取食,相对重量比出生当天增加一倍。5. 若虫期体重增加到424.6μg(13.6倍),共取食1,174μg(或1.3μl)以上。若将每天测定中取食量最高的一个重复加起来,一头若虫整个若虫期可能发生的最大取食量为1.79μl或1,811μg。

三、连续饲养 我们曾用全纯饲料连续饲养了从烟草上转接过来的桃蚜三代,初羽 化无翅孤雌胎生雌蚜的平均体重分别为: $440\pm90.7~\mu g$, $264\pm104.9~\mu g$ 和 $312\pm127.9~\mu g$ 。

羽化后第3天为产幼蚜高峰。

讨 论

目前为止,有 4 种方法饲养桃蚜。效果最好的是在萝卜或芥菜苗上。低密度饲养,体重达 800—1,000 μg(Mittler 等,1971;1979)。 Magayarosy 等 (1979) 用 Amsinekia dougasiana 韧皮部渗出液连续饲养 5 代,体重 117—250 μg 之间。在全纯饲料上,报道过连续饲养 20 代 (Dadd, 1967),但 Mittler 等 (1976) 只能养 3 代。然而用半纯饲料却达到了连续饲养 45 代的效果 (Mittler 等,1974;1976;1979)。他认为半纯饲料不仅增加固醇、磷酸酯和核酸等养分或前体,减轻蚜虫-共生物复合体合成机制的负担,而且改善了饲料的营养平衡、使饲料成分处于稳定状态。 可能由于在我们的干酪素水解物和酵母浸出液中含有某种桃蚜不能接受的成分,使母蚜不能产幼。

微量元素在人工饲料中的含量对饲养蚜虫的效果已被 Akey 等(1972)证明过。增加了铁、钠、锌氯化物、用硫酸锰代替氯化镁,使豌豆蚜 (Acyrthosiphon pisum) 的饲养代数由原来的 18 代 (Akey 等,1971) 提高到 46 代 (Akey 等,1972)。

Dadd (1967) 做过微量元素改善桃蚜人工饲料的研究,铁、锌、锰、铜为不可缺少的金属元素,用这个饲料连续饲养了桃蚜 20 代。但是, Mittler 等 (1976) 没有收到这样好的效果。改变微量元素用量及螯合形式是首先值得考虑的事。

测定桃蚜在人工饲料上的取食量,即可用作其他化合物对桃蚜取食影响的比较基础, 又可用作估计桃蚜对寄主的为害损失。Mittler (1967, 1970) 曾用称量取食前后人工饲料 包靈的方法,测定孵化后5天的4龄若虫一天取食量。该文没有给出具体数据,但根据图 表推测,在含10%蔗糖,2.4%氨基酸饲料中,取食量为800-900 μg;在含15%蔗糖、 1.8% 氨基酸的饲料中,取食量为 680—850 μg/头。虽有这么高取食量,但在前一种饲料 上,发育 8 天后,成蚜重 350μg, 后者为 150μg。另外, Harrewijn 等 (1971) 用 P³² NaH₂PO₄ 标记饲料 (10μci/ml),将年龄为 24 小时以下的 1 龄幼虫 2.5mg (没有说出共有多少头)接 入人工饲料包裹上,72 小时后用 Geiger-Müller 计数管测定放射记数,获得在不同饲料上 桃蚜取食率变化的数据,但未见桃蚜1龄幼虫在基础饲料上的1天取食量。不过,在文章 的最后部分提到"根据饲料成分的变化情况,每头1龄若虫1天内的取食量为25-100 μg, 平均 28μg"。两个研究结果相差 20-30 倍。Kloft (1977) 提到 Hertel 等用液闪杯作 饲养笼,测定过死、活若蚜的取食量,但不见详细报道。Kunkel 等(1976)认为温、湿度、 光照都会影响桃蚜幼虫排泄量。本研究用液闪计数,使测定灵敏度有很大提高。 在不考 虑呼吸放出 CO₂ 情况下,整个若虫期消耗的饲料为 1174 μg/头,即 0.2 μl/天・头,相当于 202 μg。尽管多数蚜虫的多数时间停在饲料上,蜜露也就会被微孔滤膜吸收,因部分蜜露 排于饲养器壁上(取不下来),因而影响结果的问题有待明确。即使把这部分加起来,估计 也不会到 Mittler(1967) 报道每天 800-900 µg/头水平。 如果 Kennedy (1973) 的估计 (人工饲料上取食量是植株上的一半)正确的话,根据本文试验,在植株上取食汁液每天约 为 0.4 μl/头若蚜。

本试验还发现,一天内有 3.6% 的 ℃ 参加了脂溶性物质的代谢。

参考文献

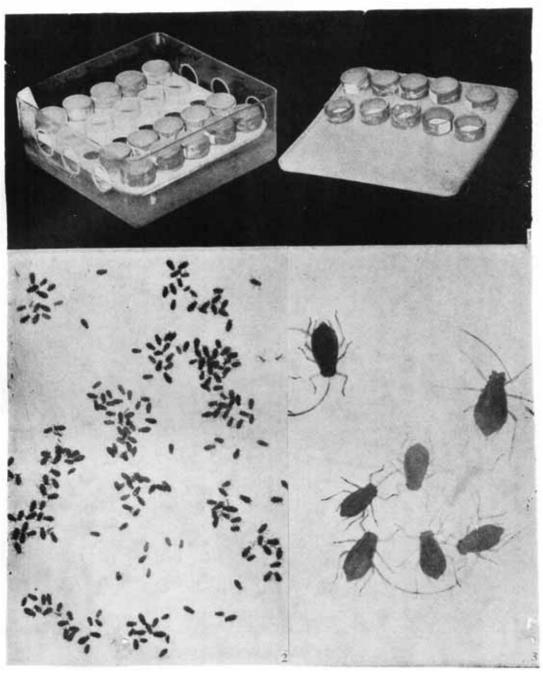
- 向近敏等 1965 细胞及组织培养。上海科技出版社。
- Akey, D. H. and S. D. Beck, 1971 Continuous rearing of the pea aphid, Acyrthosiphon pisum, on a holidic diet. Ann. Entomol. Soc. Am. 64: 353-6.
- Akey, D. H. and S. D. Beck, 1972 Nutrition of the pea aphid, Acyrthosiphon pisum: Requirements for trace metals, sulphur, and cholesterol. J. Insect Physiol. 18: 1901—14.
- Dadd, R. H. 1967 Improvement of synthetic diet for the aphid Myzus persicae using plant juices, nucleic acids, or trace metals. J. Insect Physiol. 13: 763-78.
- Dadd, R. H. and T. E. Mittler, 1966 Permanent culture of an aphid on a totally synthetic diet. Experienia 22: 832—5.
- Dadd, R. H. et al. 1967 Studies on the artificial feeding of the aphid Myzus persicae (Sulzer)-IV. Requirements for water soluble vitamins and ascorbic acid. J. Insect physiol. 13: 249—72.
- Ehrhardt, P. 1968 Der Vitaminbedarf einer Siebrohrensaugenden Aphide Neomyzus circumflexus Buckt (Homoptera, Insecta). Zeitschr. Vergl. Physiol. 60: 416—26.
- Griffiths, D. G. et al. 1975 An artificial diet with improved acceptability to 3 strains of Myzus persicae (Sulz) (Hemiptera, Aphididae). Bull. Entom. Res. 64: 349-58.
- Harrewijn, P. 1971 Taste perception of Myzus persicae in relation to food uptake and developmental processes. Ent. Exp. Appl. 14: 413—9.
- Harrewijn, P. 1973 Functional significance of indole alkylamines linked to nutritional factors in wing development of the aphid Myzus persicae. Ent. Exp. Appl. 16: 449-513.
- Kennedy, J. S. et al. 1973 The plant in the life of an aphid. In 'Insect/Plant relationships' ed. by Van Emden, pp. 129-140
- Kloft, W. J. 1977 Radioisotopes in aphid research. In 'Aphids as virus vectors.' Ed. Harris, K. F. pp. 291—10.
- Kunkel, H. and R. Hertel, 1976 Excretion in larvae of Mysus persicae fed on artificial diet under different laboratory conditions. Ent. Exp. Appl. 19: 82-95.
- Kunkel, H. 1977 Membrane feeding systems in aphid research. In' Aphids as virus vectors' Ed. by Harris, K. F. pp. 331-38.
- Magayarosy, A. C. et al. 1979 Rearing of the aphid Myzus persicae on phloem exudate from Amsinckia douglasiana plants infected with curly top virus. Ent. Exp. Appl. 26: 339—42.
- Markkula, M. et al. 1967 The effect of amino acids, vitamins, and trace elements on the development of Acyrthosiphon pisum Harris (Homoptera; Aphididae). Ann. Agri. Fenn. 6: 77—80.
- Mittler, T. E. 1967 Effect of amino acid and sugar concentrations on food uptake of the aphid Myzus persone. Ent. Exp. Appl. 19: 82-95.
- Mittler, T. E. 1970 Effects on dietary amino acids on the feeding rate of the aphid Myzus persicae. Ent. Exp. Appl. 13: 482-7.
- Mittler, T. E. 1971 Some effects on the aphid Myzus persicae of ingesting antibiotics incorporated into artificial diets. J. Insect Physiol. 17: 1333-47.
- Mittler, T. E. et al. 1962 Artificial feeding and rearing of the aphid, Myzus persicae (Sulzer) on a completely defined synthetic diet. Nature 195: 404.
- Mittler, T. E. et al. 1974 Meridic artificial diets for rearing aphids. Ent. Exp. Appl. 17: 524-5.
- Mittler, T. E. et al. 1976 Development of meridic and oligidic diets for rearing the aphid Myzus persicae.

 J. Insect Physiol. 22: 1135-41.
- Mittler, T. E. et al. 1979 Inhibition by kinoprene of photoperiod-induced male production by apterous and alate viviparae of the aphid Myzus persicae. J. Insect Physiol. 25: 219-26.

REARING MYZUS PERSICAE OF BEIJING ON AN ARTIFICIAL DIET

KE LI-DAO QIN JUN-DE (Institute of Zoology, Academia Sinica)

The green peach aphid Myzus persicae Sulzer from tobacco plants in a Beijing greenhouse was reared on a chemically defined diet modified from Dadd's (1966) formula at $25 \pm 1^{\circ}$ C, R. H. 80—95% and a photo-regime of 16:8 (1; d). The aphids could be reared successively for three generations, with mean body weights of the newly emerged apterous viviparae to be $440\pm90.7\,\mu\text{g}$, $264\pm104.9\,\mu\text{g}$ and $312\pm127.9\,\mu\text{g}$ respectively. Diet uptake was determined quantitatively by the isotope dilution technique and it was found during the whole nymphal stage to be about 1. $174\,\mu\text{g}/\text{aphid}$ or $1.16\,\mu\text{l}/\text{aphid}$.



- 1. 蚜虫饲养器
- 2. 桃蚜若虫安定地在人工饲料上取食。圆形环为覆盖于膜下的人工饲料所在处。
- 3. 在人工饲料上饲养第6天,少数成蚜刚羽化。